OIPE JC73
FEB 0 9 2005
PATENT & TRADEMARK OFFICE

Attorney's Docket No.: 13709-003001 / CH:HTO, FP/N-66-4US

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

| | | | |
|---|---|---|---|
| Applicant | : Hiroyuki KAWAHARA et al. | Art Unit | : 1632 |
| Serial No. | : 10/683,586 | Examiner | : Unknown |
| Filed | : October 14, 2003 | Confirmation No.: | 7670 |
| Title | : METHOD FOR PRODUCING FISH GELATIN PEPTIDE | | |

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

**TRANSMITTAL OF PRIORITY DOCUMENT UNDER 35 USC §119**

Applicants hereby confirm their claim of priority under 35 USC §119 from the following application:

**Japan Application No. 2002-306711 filed October 22, 2002**

A certified copy of the application from which priority is claimed is submitted herewith.

Please apply any charges or credits to Deposit Account No. 06-1050.

Respectfully submitted,

Date: February 9, 2005

John F. Hayden
Reg. No. 37,640

Customer No. 26171
Fish & Richardson P.C.
1425 K Street, N.W., 11th Floor
Washington, DC 20005-3500
Telephone: (202) 783-5070
Facsimile: (202) 783-2331

40266290.doc

Best Available Copy

# 日本国特許庁
# JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: ２００２年１０月２２日

出願番号
Application Number: 特願２００２－３０６７１１

[ST. 10/C]: [ＪＰ２００２－３０６７１１]

願人
Applicant(s): 日本水産株式会社

CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

２００３年１１月１２日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫

【書類名】　特許願
【整理番号】　NI-14-08
【あて先】　特許庁長官　殿
【発明者】
【住所又は居所】　八王子市北野町５５９－６　日本水産株式会社　中央研究所内
【氏名】　川原　裕之
【発明者】
【住所又は居所】　八王子市北野町５５９－６　日本水産株式会社　中央研究所内
【氏名】　谷端　孝之
【特許出願人】
【識別番号】　000004189
【氏名又は名称】　日本水産株式会社
【代表者】　垣添　直也
【手数料の表示】
【予納台帳番号】　062662
【納付金額】　21,000円
【提出物件の目録】
【物件名】　明細書　1
【物件名】　図面　1
【物件名】　要約書　1
【プルーフの要否】　要

【書類名】　明細書

【発明の名称】　魚由来ゼラチンペプチドの製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項１】　魚皮を０．１～５％の食塩水と真水により洗浄し、中性の水を用いて５０～１００℃の温度で抽出し、水層を酵素処理し、濃縮し、活性炭処理し、乾燥するゼラチンペプチドの製造方法。

【請求項２】　洗浄水の食塩水濃度が０．５～２％である請求項１のゼラチンペプチドの製造方法。

【請求項３】　魚皮が白身魚由来の魚皮である請求項１または２のゼラチンペプチドの製造方法。

【請求項４】　白身魚がタラ類の魚である請求項３のゼラチンペプチドの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【産業の属する技術分野】

本発明は魚由来のゼラチンペプチドの製造方法に関する。

動物の組織に広く分布するタンパク質であるコラーゲンを加温によって水溶性にしたものはゼラチンと呼ばれ、医薬品、食品をはじめ多くの工業用材料として利用されている。このゼラチンの水溶液は低温下ではゲル化して固まるため、このゲル化するという性質を期待した用途には分子量が高いことが望まれるが、例えば飲料に添加する場合などにはむしろこうした性質は好まれない。コラーゲンやゼラチンの栄養学的な性質を維持したまま、高粘度あるいは低温でゲル化することを避ける目的で、ゼラチンを部分的に加水分解し、低分子化したものはコラーゲン・ペプチドまたはゼラチン・ペプチドと呼ばれる。

本発明において「ゼラチンペプチド」とはゼラチンを酵素等で部分的に加水分解し、平均分子量数千程度まで低分子化した水に易溶なペプチドを指す。

【０００２】

【従来の技術】

従来、動物組織からゼラチンを抽出するためにはアルカリまたは酸による前処

理を行なうのが常識で、これにより夾雑物の混入を避け、抽出効率を上昇させることができる。しかしながら、これらの処理には長時間を要したり、多くの手間がかかる場合が少なくない。動物の皮を原料とした場合には、しばしば前処理として希薄な酸溶液で浸漬され、これによって組織が軟化、膨潤することで抽出時の効率を高めている。

【０００３】

一方、魚の皮を用いた場合にも同様の効果は認められるが、寿命が短く成長の早い魚類では組織が陸上動物ほど複雑化しないため、同処理を経由しなくても大きく抽出効率が落ちるわけではない。さらに、酸処理を経由した場合には洗浄液を十分に除去しても試料中に酸が残存するため、抽出用に真水を使用しても酸性寄りの条件下での抽出となる。こうして得られる抽出液にはコラーゲン由来成分の他にも夾雑タンパクが抽出されるため、キレート剤を加えて沈殿を生成させそれを除くなどの清澄化処理等、なんらかの精製工程を踏まなくてはならない。また、魚を原料とした場合には調整したゼラチン関連製品に独特の魚臭が残り、食品用途として用いる場合には適さない場合もある。

【０００４】

非特許文献１には、動物組織からのゼラチンの一般的製造方法（アルカリ処理－水洗－中和－水洗－抽出－濾か－濃縮－切断－乾燥）が記載されている。

非特許文献２には、「ゼラチン・コラーゲン由来食品素材の分析と開発の新展開」と題して、アルカリ処理のコラーゲンへの影響－豚、魚類の真皮を加熱すると比較的簡単にゼラチンが可溶化してくるため、洗浄した材料を酸性溶液で直接可溶化する。一方、牛の真皮は－中略－抽出効率を上げるために水酸化ナトリウムや石灰水によるアルカリ処理が行われることなどが記載されている。

非特許文献３には、「コラーゲンの食品への利用展開と今後」と題して、ゼラチンを製造する場合：コラーゲンを酸あるいはアルカリであらかじめ前処理を行なう。一般的に牛原料は消石灰に２～３ヶ月間漬けるアルカリ処理。豚原料は希塩酸などに数十時間漬ける酸処理を行う。また、コラーゲンペプチドの製法：原料はゼラチンで一般的にゼラチンはアルカリ処理ゼラチンまたは酸処理ゼラチンを用いる。加水分解：塩酸などの酸、またはタンパク質分解酵素を使用する。と

記載されている。

非特許文献４には、「ゼラチンの食品への利用展開と今後」と題して、ゼラチンの製造方法－これらのコラーゲン原料から、効率良く高品質のゼラチンを抽出するために、酸もしくは石灰を用いて、原料の前処理を行なう。前処理の終わった原料は水洗し、過剰の酸やアルカリを除去したのち、温水を用いて加熱し、ゼラチンを抽出する。ことが記載されている。

【０００５】

【非特許文献１】

蛋白質化学３，p453-463，共立出版（1955）

【非特許文献２】

食品加工技術，vol.21，No.1，p16-21(2001)

【非特許文献３】

食品加工技術，vol.21，No.1，p22-27(2001)

【非特許文献４】

食品加工技術，vol.21，No.1，p28-33(2001)

【０００６】

【発明が解決しようとする課題】

ゼラチンペプチドは広く健康食品や一般食品に利用されているが、近年の狂牛病騒動などから牛由来製品は消費者に敬遠される傾向にあり、豚や魚への原料のシフトが進む中、魚由来製品には独特の臭い（魚臭）が残ることから、実際には広く利用されるに至っていない。これが解決されれば魚由来製品は他の動物由来製品と同等に利用価値の高いものとなる。

すなわち、本発明は、より簡潔な工程で魚臭が低減された魚皮由来ゼラチンペプチドの製造を可能にすることを課題とする。

【０００７】

【課題を解決するための手段】

本発明は、魚皮を０．１～５％の食塩水と真水により洗浄し、中性の水を用いて５０～１００℃の温度で抽出し、水層を酵素処理し、濃縮し、活性炭処理し、乾燥するゼラチンペプチドの製造方法を要旨とする。洗浄水の食塩水の塩分濃度

は０．５～２％がより好ましい。魚皮は白身魚由来の魚皮が好ましく、特に好ましいのは、スケソウダラまたはマダラ等、タラ類の魚由来の皮である。

魚皮としては、フィレ加工等の残滓として出る皮などが使用できる。また、真水とは、水道水、精製水など通常の水を意味する。中性の水とは積極的に酸やアルカリに調節していない水の意味であり、中性付近の水道水、精製水などが使用できる。

【０００８】

【発明の実施の形態】

着色度が低く、魚臭を低減した製品を得るためには、前処理すなわち洗浄の条件と活性炭処理を本発明に示した手順で組み合わせることが重要である。前処理としては低濃度の食塩水での洗浄が必須である。好ましくは0.1%から5%の濃度の食塩水で、2回以上の洗浄をしたのち、真水で２回以上の洗浄処理が適当であり、より好ましくは0.5%から2%の濃度の食塩水で同様に洗浄した後、真水でやはり同様に洗浄する処理が好適である。前処理後の魚皮は等倍量から１０倍量程度の中性の水で抽出を行なう。中性の水で抽出することで、夾雑タンパクが同時に抽出されることをかなり避けられる。したがって清澄化処理等は必須ではなくなる。抽出の温度は50℃以上であれば特に限定されないが、好ましくは60℃～100℃の範囲で1～5時間程度実施するのが良い。抽出操作は単回でも良好な結果を得られるが、歩留りの向上のために抽出液を交換して2回以上抽出しても構わない。抽出後は魚種によって油を多く含むものもあるため、遠心分離等で水層のみを得る必要がある。油の少ない魚種では特にこの操作の必要はなく、好ましくは白身魚の魚皮、より好ましくはスケソウダラ、マダラ等のタラ類の魚皮を用いることで良好な抽出液が得られる。抽出液中に混入した固形分は出きるだけ取り除くことが望ましく、この目的には各種フィルターを用いたろ過や遠心分離が利用できる。

【０００９】

次に酵素処理を行なう。タンパク質の主鎖を切断できる酵素であれば特に限定されないが、好ましくはエンド型プロテアーゼが用いられる。酵素によって適当な添加量、反応温度、反応時間が決まるが、目的ペプチドの分子量によってこの

条件は制御可能である。酵素反応後は使用した酵素が失活する条件の処理を行なうが、加熱によって失活する酵素を利用すると簡便である。酵素失活処理後はペプチド溶液の濃縮を行なう。濃縮の方法は特に限定されないが、減圧下加熱を行ない水分を除去する方法が一般的で好ましい。

【００１０】

次いで活性炭処理を行なうが、粉末状活性炭を加え一定時間撹拌した後、ろ過する方法でも良いし、カラム状に活性炭を充填した装置を通過させる処理も好適である。その後は製品の求められる性状に合わせた乾燥方法が適用できるが、粉末状の製品を得るためには凍結乾燥、噴霧乾燥が望ましい。以上の手順が必須の工程であるが、適宜塩分を除くイオン交換処理や殺菌処理等の各種工程を挿入してもよい。この方法により白色でほぼ魚臭のないゼラチンペプチドが得られ、水に溶解することでほぼ無色透明な溶液を得ることができる。

本発明の製造方法による収率は、抽出温度、時間、処理回数に依存するが、従来法と比較して遜色ないものである。

【００１１】

【実施例】

本願発明の詳細を実施例で説明する。本願発明はこれらの実施例によって何ら限定されるものではない。

【００１２】

実施例1

前処理方法のスクリーニング

スケソウダラ皮約5gを表1記載の各種溶液50mlにて室温で１時間浸漬後、洗浄液を除き、水洗した後、凍結乾燥させたものについて官能評価により魚臭低減効果を評価した。魚皮洗浄による魚臭低減効果の比較の結果は表１に示すとおりであった。（評価基準は、＋：わずかに魚臭を感じる、++：弱い魚臭を感じる、+++：はっきりと魚臭を感じる 、である。）

【００１３】

【表１】

| 洗浄液 | 評価 |
|---|---|
| 洗浄なし | ＋＋＋ |
| 水 | ＋ |
| 0.5%食塩水 | ＋ |
| 1.0%食塩水 | ＋ |
| 5.0%食塩水 | ＋＋ |
| 10%食塩水 | ＋＋＋ |
| 20%食塩水 | ＋＋＋ |
| 0.1N NaOH | ＋＋ |
| 0.1N HCl | ＋＋＋ |

【００１４】

この評価を一次評価とし、評価の良かったものについて、各々水50mlで60℃、1時間抽出を行い、凍結乾燥したゼラチンを調整し、これについて同様に二次評価を行なった。洗浄処理後得たゼラチン乾燥物の臭いの評価の結果を表2に示す。（評価基準は、＋：わずかに魚臭を感じる、++：弱い魚臭を感じる、である。）

表２に示されるように、前処理の洗浄液としては、0.5%、1.0%などの低濃度の食塩水が好適であることが示された。

【００１５】

【表２】

| 洗浄液 | 評価 |
|---|---|
| 水 | ＋＋ |
| 0.5%食塩水 | ＋ |
| 1.0%食塩水 | ＋ |

【００１６】

実施例2

スケソウダラ魚皮を用いたゼラチンペプチドの調整

スケソウダラ魚皮100gを、1.0%NaCl水1L、1.0%NaCl水0.5L、水0.5L、水0.5L

で順次洗浄し、水300ml、60℃、１時間で抽出を行なった。抽出液を濾過してアルカラーゼ(Novo Nordisk)0.1mlを加え、60℃、1.5時間、低分子化処理を行なった。反応後、10分間煮沸を行い酵素を失活させた。得られた試料液は遠心分離で不溶分を除き、減圧濃縮した。活性炭1gを加え、室温、1時間、攪拌した後、吸引濾過で活性炭を除き、凍結乾燥にてゼラチンペプチドを得た。収量8.0g(収率約8%)。

【００１７】

実施例3

前処理と活性炭処理の組み合わせの効果

以下の条件において調整したゼラチンペプチドの品質を比較した。

条件1：　原料洗浄処理なし、活性炭処理なし

条件2：　原料洗浄（1%食塩水、水）有り、活性炭処理なし

条件3：　原料洗浄処理なし、活性炭処理有り

条件4：　原料洗浄（1%食塩水、水）有り、活性炭処理有り

前処理と活性炭処理を除く他の工程については、実施例2と同様の条件を用いた。試料の比較はそれぞれ10%溶液を調整し、臭いについて官能評価、色については分光光度計による測定を行なった。魚臭の比較についての官能評価の結果を表３に示す。（評価基準は、±：ほとんど魚臭を感じない、＋：わずかに魚臭を感じる、＋＋：弱い魚臭を感じる、＋＋＋：はっきりと魚臭を感じる、である。）

【００１８】

【表３】

| 条件 | 評価 |
|---|---|
| 1 | ＋＋＋ |
| 2 | ＋＋ |
| 3 | ＋＋ |
| 4 | ± |

【００１９】

魚臭の低減効果は前処理、活性炭処理どちらか一方の場合には同程度の効果が得られるが、両者を組み合わせることで効果が非常に高くなることが分かった。

図１に各ゼラチンペプチドの10%溶液の吸収スペクトルを示す。図１の吸収スペクトルの比較より、可視部吸光度が低下していることから、前処理による色調の改善、活性炭による色調の改善効果はそれぞれ認められるものの、両者を組み合わせることで改善効果が著しいことが分かった。

【００２０】

実施例4

スケソウダラ魚皮を用いたゼラチンペプチドの調整（スケールアップ）

スケソウダラ魚皮1.5kgを、1.0%NaCl水10L、1.0%NaCl水5L、水5L、水5Lで順次洗浄し、水4.5L、60℃、2時間で抽出を行なった。抽出液を濾過してアルカラーゼ(Novo Nordisk)1mlを加え、60℃、1.5時間、低分子化処理を行なった。反応後、10分間煮沸を行い酵素を失活させた後、遠心分離で不溶分を除き、減圧濃縮した。活性炭15gを加え、室温、1時間、攪拌した後、吸引濾過で活性炭を除き、噴霧乾燥にてゼラチンペプチドを得た。収量72.8g(収率約4.8%＊)。

（＊少量の実験のため乾燥装置に付着した粉末のロスにより、収率は低くなっている。）

【００２１】

実施例5

ミナミダラ魚皮を用いたゼラチンペプチドの製造

ミナミダラ魚皮1kgを、1.0%NaCl水10L、1.0%NaCl水5L、水5L、水5Lで順次洗浄し、水3L、60℃、1時間で抽出を行なった。抽出液を濾過してアルカラーゼ(Novo Nordisk)0.5mlを加え、60℃、1.5時間、低分子化処理を行なった。反応後、10分間煮沸を行い酵素を失活させた後、遠心分離で不溶分を除き、減圧濃縮した。活性炭10gを加え、室温、1時間、攪拌した後、吸引濾過で活性炭を除き、噴霧乾燥にてゼラチンペプチドを得た。32.5g(収率約3.3%＊)。

（＊少量の実験のため乾燥装置に付着した粉末のロスにより、収率は低くなっている。）

【００２２】

実施例6

トラウト魚皮を用いたゼラチンペプチドの製造

トラウト魚皮100gを、1.0%NaCl水1L、1.0%NaCl水0.5L、水0.5L、水0.5Lで順次洗浄し、水300ml、60℃、１時間で抽出を行なった。遠心分離により油層を分離、除去した後、抽出液を濾過してアルカラーゼ(Novo Nordisk)0.1mlを加え、60℃、1.5時間、低分子化処理を行なった。反応後、10分間煮沸を行い酵素を失活させた。得られた試料液は遠心分離で不溶分を除き、減圧濃縮した。活性炭1gを加え、室温、1時間、攪拌した後、吸引濾過で活性炭を除き、凍結乾燥にてゼラチンペプチドを得た。収量6.7g(収率約6.7%)。

【００２３】

実施例8

各社製品との比較（官能評価など）

実施例4で得られたゼラチンペプチドと他社製品（ A社、B社、C社：魚由来）との品質を比較した。各々の試料は10%溶液として魚臭および色調を官能評価で比較した。結果を表４に示す。（魚臭についての評価基準は、±：ほとんど魚臭を感じない、＋：わずかに魚臭を感じる、＋＋：弱い魚臭を感じる、＋＋＋：はっきりと魚臭を感じる、であり、色についての評価基準は、±：ほぼ無色透明、＋：わずかに着色、＋＋薄い着色、＋＋＋：はっきりと着色、である。）

【００２４】

【表４】

| | 当製品 | A社品 | B社品 | C社品 |
|---|---|---|---|---|
| 魚臭 | ±～＋ | ＋＋ | ＋＋＋ | ＋ |
| 色 | ± | ± | ＋＋ | ＋＋ |

【００２５】

市販品の幾つかの製品との比較において、本製法で調整されたゼラチンペプチドは魚臭、色調とも劣ることはなく、両者を総合的に比較すると非常に良好な品質であることが分かった。

【００２６】

【発明の効果】

本発明により、食塩水、真水による洗浄、中性水による抽出、活性炭処理とい

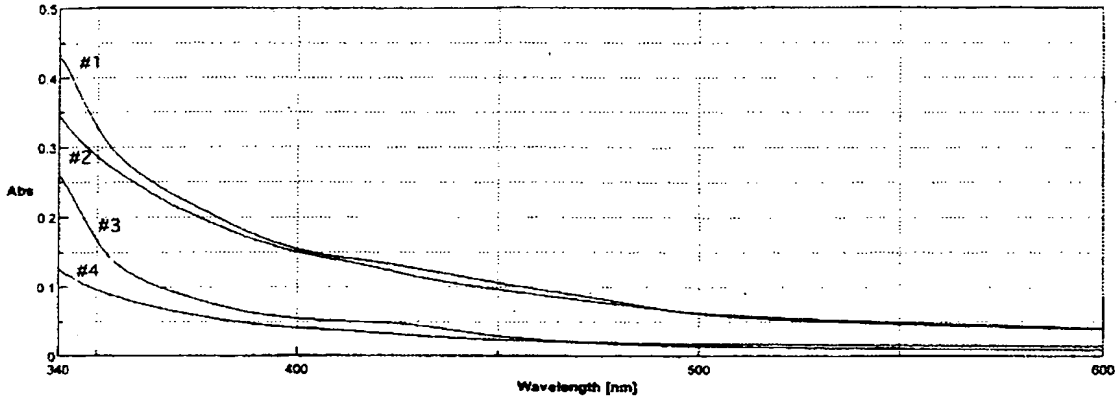
う簡潔な条件で魚臭が低減された魚皮由来ゼラチンペプチドの製造を可能にすることができる。本発明の製造方法は食塩水、真水による洗浄、中性水による抽出のみで行えるため、酸、アルカリなどの環境に負荷のある物質の使用しないで済む製造方法である。工程全体がシンプルなので、製造コストも低減することができる。

【図面の簡単な説明】

【図１】　実施例３の各ゼラチンペプチドの１０％溶液の吸収スペクトルである。（＃１、＃２、＃３、＃４はそれぞれ実施例３の条件１、２、３、４のゼラチンペプチドを表わす。）

【書類名】　図面

【図１】



【書類名】　　要約書

【要約】

【課題】　簡潔な条件・工程で魚臭が低減された魚皮由来ゼラチンペプチドの製造を可能にすること

【解決手段】　　魚皮を０．１～５％の食塩水と真水により洗浄し、中性の水を用いて５０～１００℃の温度で抽出し、水層を酵素処理し、濃縮し、活性炭処理し、乾燥するゼラチンペプチドの製造方法による。洗浄水の食塩水の塩分濃度は０．５～２％がより好ましい。魚皮は白身魚由来の魚皮が好ましく、特に好ましいのは、スケソウダラまたはマダラ等、タラ類の魚由来の皮である。

【選択図】　　なし

# 認定・付加情報

| | |
|---|---|
| 特許出願の番号 | 特願２００２－３０６７１１ |
| 受付番号 | ５０２０１５８６２５２ |
| 書類名 | 特許願 |
| 担当官 | 第一担当上席　　００９０ |
| 作成日 | 平成１４年１０月２３日 |

＜認定情報・付加情報＞

【提出日】　平成14年10月22日

次頁無

特願２００２－３０６７１１

# 出　願　人　履　歴　情　報

識別番号　　［０００００４１８９］

１．変更年月日　　１９９０年　８月２０日
［変更理由］　　新規登録
住　所　　東京都千代田区大手町２丁目６番２号
氏　名　　日本水産株式会社